

### Caracterización microbiológica de biofertilizantes inoculados con microorganismos de montaña en el departamento de Copán Honduras

Microbiological characterization of biofertilizers inoculated with mountain microorganisms in the department of Copán Honduras

Juan Manuel López Guevara <sup>1\*</sup>, Kevin Javier Estévez Ramírez <sup>1</sup>, Elena Mejía Arita <sup>1</sup>, Elyn Antonieta Romero Zepeda <sup>1</sup>, Francis Abel Díaz Chacón <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional Autónoma de Honduras (UNAH), Centro Universitario Regional de Occidente, Santa Rosa de Copán, Honduras.

\* Autor de correspondencia: [manuel.guevara@unah.edu.hn](mailto:manuel.guevara@unah.edu.hn)

Available from. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.04.35>

---

#### RESUMEN

Se analizaron las características microbiológicas de diferentes tipos de biofertilizantes durante el proceso de fermentación, elaborados con diferentes sustratos orgánicos e inoculados con microorganismos de montaña (MM), obtenidos de una zona montañosa del departamento de Copán, Honduras. Se planteó un diseño experimental, cuyos tratamientos estaban constituidos por biofertilizantes formulados con MM en medio líquido más diferentes sustratos orgánicos (estiércol de ganado bovino, de porcino, gallinaza y un grupo de control sin inoculación de MM). Luego, se observaron y midieron las poblaciones de hongos, bacterias, bacterias productoras de ácido láctico, actinomicetos y levaduras de los biofertilizantes. Los resultados del análisis muestran que no se presentan diferencias estadísticas significativas ( $\alpha = 0.05$ ) entre las medias de las poblaciones, en ninguno de los tratamientos. No se presentan diferencias estadísticas ( $\alpha = 0.05$ ) durante el tiempo de fermentación (TF), excepto para las poblaciones de actinomicetos, manifestadas en una reducción en los primeros días de fermentación, y una ligera elevación en las últimas semanas, probablemente atribuible a su lenta velocidad de crecimiento. Los resultados obtenidos podrán contribuir a los conocimientos actuales y a las prácticas que los productores agrícolas realizan en los sistemas de producción, al utilizar alternativas orgánicas de fertilización.

**Palabras claves.** microorganismos de montaña, biofertilizantes, características microbiológicas, proceso de fermentación, estiércol bovino, estiércol porcino, gallinaza.

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

### ABSTRACT

The study was focused on analyzing the chemical characteristics of different types of bio-fertilizers during the fermentation process, made with various organic substrates and inoculated with mountain microorganisms (MM) collected from a mountainous zone in the department of Copán, Honduras. A completely randomized design was outlined, with treatments constituted by bio-fertilizers formulated with MM in a liquid medium plus different organic substrates (bovine, porcine and poultry manure and a control group without inoculation of MM). Then, fungi, bacteria, lactic acid-producing bacteria, actinomycetes, and yeast populations of the obtained bio-fertilizers were analyzed and measured. The analysis results show no significant statistical differences ( $\alpha = 0.05$ ) among the population means in any treatment. There were no statistically significant differences during the fermentation time ( $\alpha = 0.05$ ), except for the actinomycetes populations, expressed in a reduction during the first fermentation days and a slight increase during the last weeks, probably attributable to their slow growth speed. Results achieved could contribute to current knowledge and to practices that farm producers implement in their production systems, using organic fertilization alternatives.

**Keywords:** mountain microorganisms, bio-fertilizers, microbiological characteristics, fermentation process, bovine manure, porcine manure, poultry manure

---

### INTRODUCCIÓN

Los microorganismos eficientes (ME) son una combinación de microorganismos, constituidos por levaduras, bacterias (productoras de ácido láctico, fotosintéticas) y hongos de fermentación<sup>1,2</sup>, considerados beneficiosos, por su contribución a incrementar la diversidad microbiana de los suelos<sup>3</sup>. Se les conoce como ME, por su eficiencia en la fijación de nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos o la promoción del reciclaje de nutrientes<sup>4</sup>.

Se trata de microorganismos presentes en ecosistemas naturales, fisiológicamente compatibles unos con otros y capaces de coexistir en un cultivo líquido<sup>5</sup>, aunque pueden presentarse interacciones antagónicas que pueden causar la desaparición o disminución significativa de algún organismo de interés<sup>6</sup>. Los MM se reconocen como un consorcio particular de microorganismos, compuesto principalmente por hongos y bacterias que representan habitantes naturales de sistemas edáficos alrededor del mundo<sup>7</sup>.

La utilización de MM se ha promovido en los últimos años para la formulación de biofertilizantes, que contienen microorganismos provenientes de cepas eficientes que aceleran los procesos microbianos del suelo mejorando la

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

asimilación de nutrientes por parte de las plantas<sup>8,9</sup>. Diversos estudios se han realizado sobre la caracterización de MM en biofertilizantes<sup>10, 11</sup> y sobre la medición de efectos en cultivos<sup>1, 7</sup>.

Se desarrolló la presente investigación con el objetivo de analizar las características microbiológicas de diferentes tipos de biofertilizantes, elaborados con diferentes sustratos orgánicos e inoculados con MM, provenientes de la zona de protección forestal Cocoyagua en el departamento de Copán, buscando contribuir al conocimiento de la potencialidad que los MM ofrecen y la viabilidad de su utilización en productos formulados a partir de éstos.

El bioinsumo que se estudia es un biofertilizante líquido artesanal elaborado con estiércoles de bovino, porcino y gallinaza e inoculado con MM. La importancia del estudio se relaciona con la búsqueda de alternativas de fertilización de los cultivos que sean amigables ambientalmente, que utilicen insumos locales y que contribuyan a contrarrestar el alto costo de los insumos agrícolas.

---

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño

Se presenta un diseño experimental completamente al azar (DCA) con 4 tratamientos y 3 repeticiones cada uno (12 unidades experimentales), constituidos por biofertilizante multimineral inoculado con MM: 1) más estiércol de bovino (T1), 2) más estiércol de porcino (T2), 3) más gallinaza (T3), 4) sin adición de estiércol o grupo de control (C). Se analizó de manera independiente la composición microbiológica del compuesto elaborado en el tiempo de fermentación (TF): a los 15, 30, 45, 60 y 75 días.

### Entorno

El área de recolección y fermentación de los MM, conocida como Cocoyagua, se localiza en el departamento de Copán, en el occidente de Honduras. Es una zona montañosa y de relieve irregular, con una altitud entre 900 y 1500 msnm, una precipitación entre 1300 y 1500 mm de agua por año y una temperatura entre 20 y 30° C<sup>12</sup>.

Las pruebas microbiológicas se realizaron en el Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del Centro Universitario Regional de Occidente (CUROC).

### Intervenciones

Para la formulación de los MM en medio sólido, se realizó la limpieza manual y desmenuzado de 220 libras de hojarasca, adicionando 200 libras de salvado de trigo, 4 galones de melaza y 26 galones de agua, mezclándolos

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

hasta obtener un compuesto uniforme, y compactándolo dentro de un barril para empezar el proceso de fermentación por 15 días.

El proceso de formulación de los MM en medio líquido consiste en colocar 120 libras de MM en medio sólido en sacos de manta, se sumerge en un barril con una mezcla de 6 galones de melaza y 206 galones de agua y se deja en reposo protegido de la luz solar y la lluvia por 15 días.

Se formularon los biofertilizantes de forma separada con 15 libras de cada uno de los estiércoles y otros insumos como la melaza (1/3 de galón), ceniza (2 libras), suero de leche (2.6 galones), miel de café (2.6 galones), cal hidratada (2 libras) y MM en su fase líquida. El proceso se adaptó a partir de formulaciones orgánicas artesanales desarrolladas por organizaciones de productores, como Café Orgánico Marcala<sup>13</sup>, o procesos apoyados por instituciones como Plan Trifinio<sup>14</sup>, Zamorano<sup>11</sup> y el Instituto Hondureño del Café<sup>15</sup>. Tales experiencias se han basado en estudios desarrollados desde 1970<sup>5</sup>, hasta la actualidad<sup>2, 16-18</sup>.

Los biofertilizantes se dispusieron en un conjunto de recipientes acondicionados para el proceso experimental. El muestreo se realizó agitando el contenido de cada recipiente distribuyendo uniformemente las sustancias presentes, para extraer una alícuota del compuesto y trasladarla al laboratorio, en botellas de plástico rotuladas, en contenedores a temperaturas alrededor de 4°C. Se tomaron muestras a los 15, 30, 45, 60 y 75 días del proceso de fermentación, para realizar los análisis de hongos, bacterias, bacterias productoras de ácido láctico, actinomicetos y levaduras.

La selección de los grupos de microorganismos se realizó con base en autores que los describen como los más importantes MM: Higa y Parr<sup>5</sup>, los presentan como poblaciones predominantes de bacterias ácido lácticas y levaduras, y menores proporciones de bacterias fotosintéticas, actinomicetos y otros tipos de organismos. Otros autores<sup>19, 18</sup> destacan, además, los hongos fermentadores. Los mismos grupos son confirmados en investigaciones posteriores<sup>2, 11, 7</sup>.

Los medios de cultivo utilizados fueron Agar Nutriente, Agar Papa Dextrosa, Agar Sabouraud Dextrosa, Agar Lactobacillus MRS y Agar Actinomicetos. De las diluciones preparadas con las muestras obtenidas de cada unidad experimental (12), se sembraron diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-3}$  y  $10^{-6}$ , por duplicado, es decir, 6 placas por unidad experimental para un total de 72 placas, que al multiplicarlas por 5 medios de cultivo, se obtiene un total de 360 placas con medio de cultivo.

La siembra en todos los medios de cultivo se realizó por inoculación directa de las diluciones en las placas Petri utilizando la técnica de recuento en placa. Se contaron las placas con la dilución que permitió identificar entre 30 y 300 colonias y se obtuvo una media aritmética de las dos placas con la dilución seleccionada para hacer el recuento

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

### Análisis de datos

La organización, tabulación y procesamiento de los datos obtenidos se realizó utilizando hojas de cálculo de Excel y el programa estadístico InfoStat. El análisis descriptivo de los resultados se realizó por medio de medidas descriptivas y gráficas. La variación se estudió a través de un análisis de varianza (ANOVA), determinando las variaciones con niveles de significancia  $\alpha = 0.05$ . Posteriormente, se realizaron pruebas de rango post ANOVA (prueba de la diferencia honesta significativa [DHS] de Tukey, con un nivel de significancia  $\alpha = 0.05$ ), para determinar las diferencias particulares (entre cada uno de los tratamientos y entre cada uno de los TF).

## RESULTADOS

### Poblaciones de hongos

El comportamiento que se observa, de acuerdo a la Fig. 1, es similar en todos los tratamientos. El T1 (estiércol de bovino) presenta los valores más bajos a lo largo del período de fermentación ( $7.3 \times 10^3$  UFC/ml), mientras que el C muestran los valores más altos ( $1.16 \times 10^4$  UFC/ml).

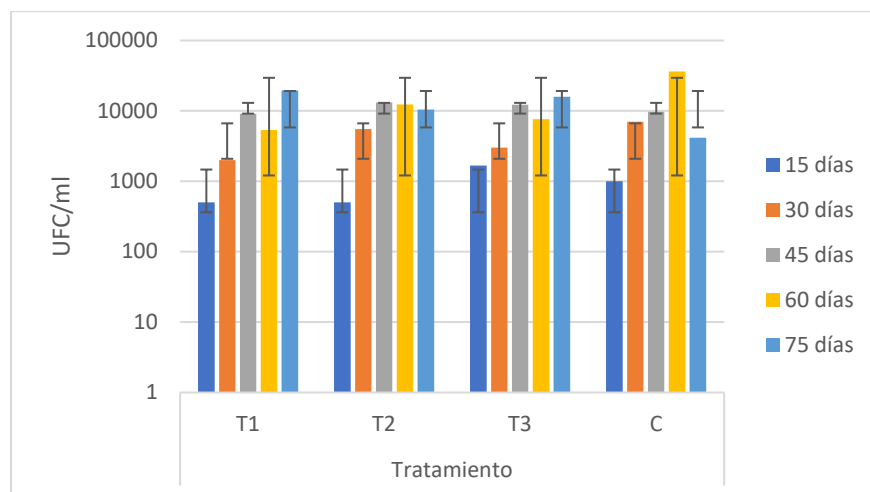
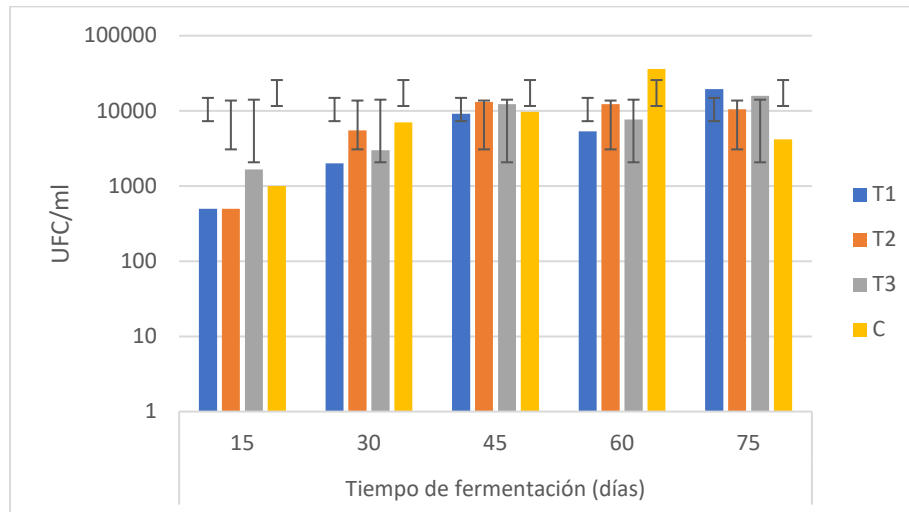


Figura 1. Recuento microbiológico de hongos (UFC/ ml) registrado en los biofertilizantes según sus tratamientos (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

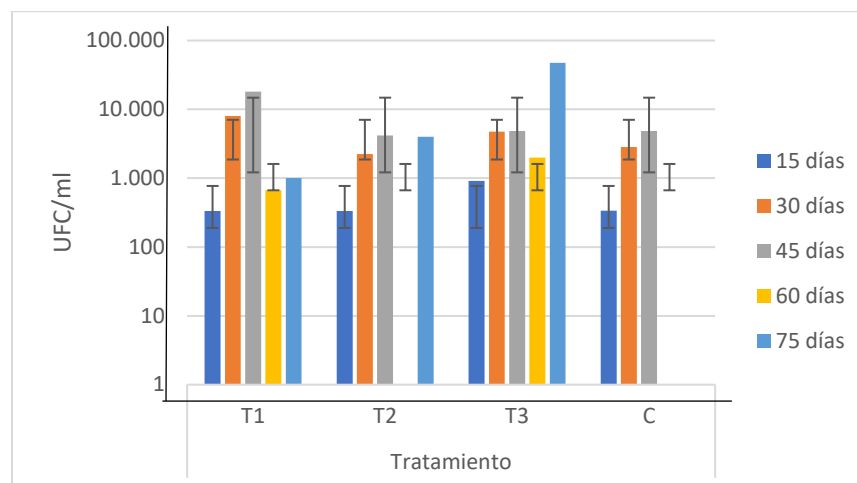
En general (Fig. 2), el desarrollo de hongos durante el TF muestra un comportamiento creciente a partir de los 30 días, alcanzando los valores máximos a los 45 días. No se muestran diferencias estadísticas ( $\alpha = 0.05$ ) entre las medias de las poblaciones de hongos.



**Figure. 2** Recuento microbiológico de hongos (UFC/ml) en los biofertilizantes durante el TF (días) (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).

### Poblaciones de bacterias

El comportamiento se muestra similar en todos los tratamientos, siendo el T3 ( $1.19 \times 10^4$  UFC/ml) el que presenta las poblaciones más elevadas, particularmente en la última etapa del período de fermentación (la Fig. 3). No se encuentran diferencias estadísticas que indiquen que las poblaciones de bacterias presentan variación en los diferentes tipos de estiércoles utilizados.



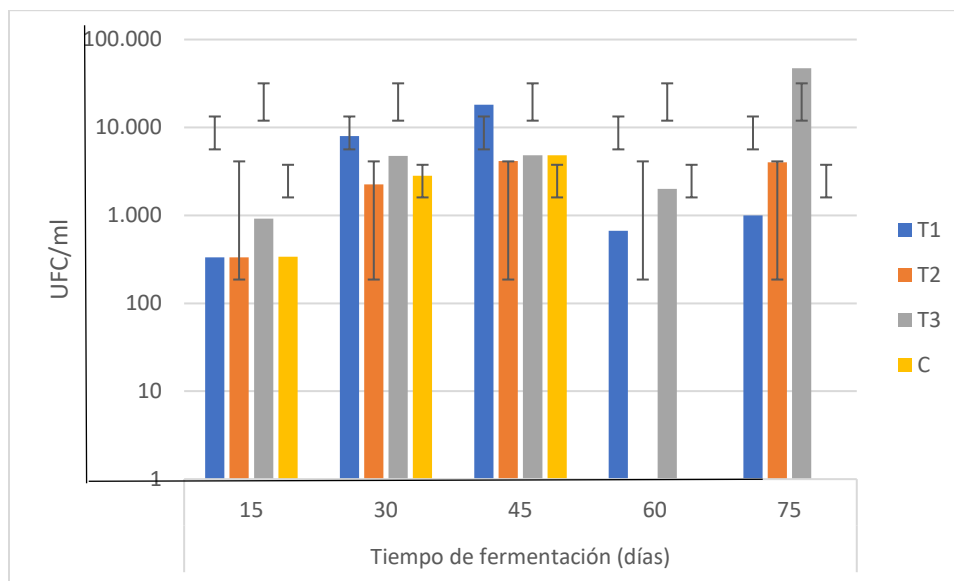
# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

**Figura 3. Recuento microbiológico de bacterias encontradas en los biofertilizantes según sus tratamientos (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).**

El comportamiento en el TF muestra en general (Fig. 4), una tendencia creciente hasta los 45 días de fermentación, para sufrir un descenso a los 60 días y luego alcanzar los valores más altos a los 75 días ( $1.7 \times 10^4$  UFC/ml). En otro estudio cotejado<sup>18</sup>, los resultados más elevados son obtenidos a los 45 días ( $2.01 \times 10^4$  UFC/ml). El autor indica que esto puede estar relacionado con el momento en que las bacterias se encuentran en la etapa de multiplicación, pudiendo estar asimilando los nutrientes para aumentar su población.

Los resultados muestran que, a pesar de la tendencia creciente hasta los 45 días, no existen diferencias estadísticas ( $\alpha = 0.05$ ) entre las medias de las poblaciones de bacterias en el TF, indicando que estas se mantienen durante los 75 días de fermentación.



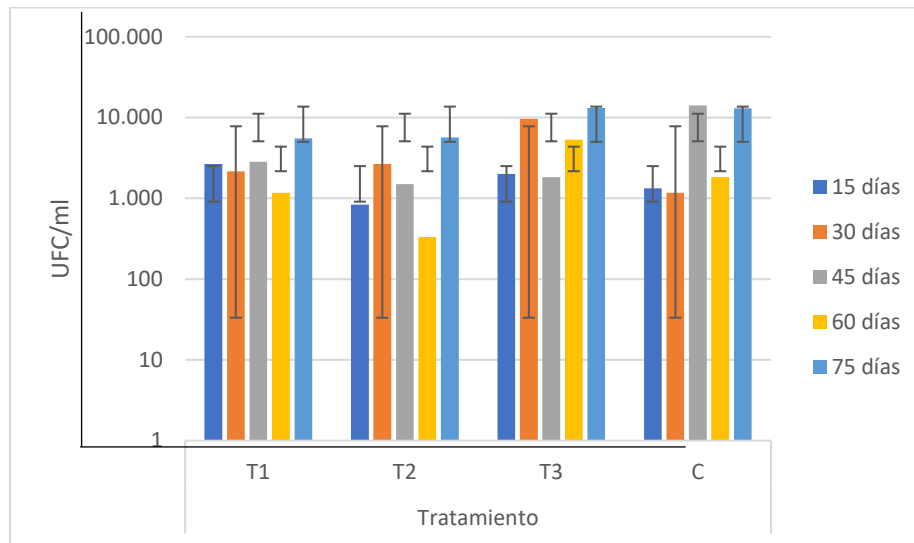
**Figura 4. Recuento microbiológico de bacterias (U.F.C/ml) en los biofertilizantes durante el TF (días) (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).**

### Poblaciones de bacterias productoras de ácido láctico

En conjunto (Fig. 5), se identifican el T3 y el C como los grupos con los valores más elevados de poblaciones de bacterias ácido lácticas ( $6.4 \times 10^3$  y  $6.3 \times 10^4$  UFC/ml respectivamente). El ANOVA muestra que no existe variabilidad de los valores de las poblaciones de bacterias formadoras de ácido láctico entre los diferentes estiércoles utilizados.

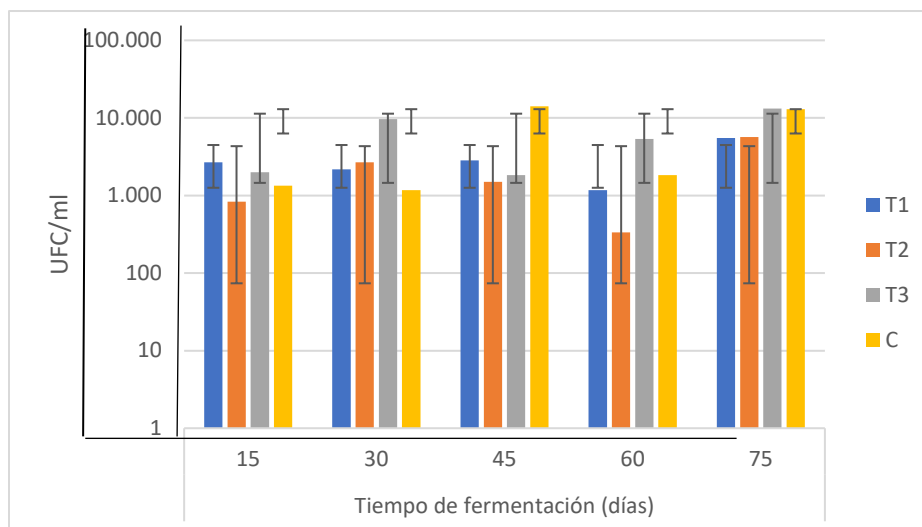
# Bionatura

Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences



**Figura 5. Recuento microbiológico de bacterias ácido lácticas (U.F.C/ml) en los biofertilizantes según sus tratamientos (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).**

En general, las cantidades de bacterias ácido lácticas encontradas en el biofertilizante muestran un comportamiento creciente hasta los 45 días (desde  $1.7 \times 10^3$  hasta  $5.08 \times 10^3$  U.F.C/ml), sufriendo una reducción a los 60 días ( $2.2 \times 10^3$  U.F.C/ ml) para alcanzar los valores más altos a los 75 ( $9.3 \times 10^3$  UFC/ ml) (Fig. 6). El ANOVA muestra que no existen diferencias estadísticas ( $\alpha = 0.05$ ) entre las medias de las poblaciones en el período de fermentación de los biofertilizantes.



**Figura 6. Recuento microbiológico de bacterias ácido lácticas (UFC/ml) en los biofertilizantes en el TF (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).**



# Bionatura

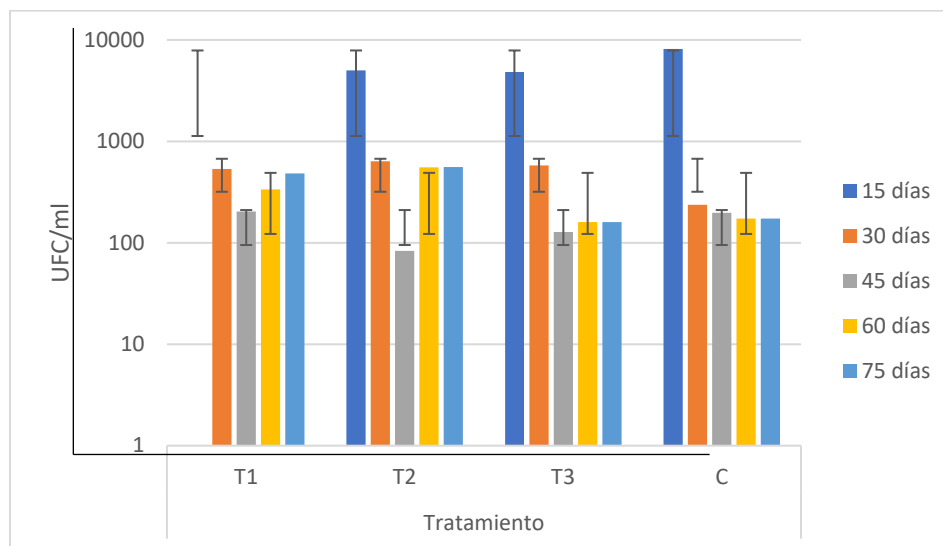
## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

El recuento microbiológico presentado en dos estudios muestra que, mientras que las poblaciones de *Lactobacillus* pueden llegar hasta  $3.7 \times 10^8$  UFC/ml<sup>17</sup>, pueden llegar a descender hasta  $4.0 \times 10^4$  UFC/ml<sup>16</sup> en el periodo de fermentación.

### Poblaciones de actinomicetos

Entre los tratamientos, el T2 presenta los valores más elevados ( $5.5 \times 10^2$  UFC/ml), mientras que el C muestra los más bajos, con  $1.9 \times 10^2$  UFC/ml (Fig. 7). Las tendencias temporales entre estos extremos se mantienen a lo largo del período de fermentación.

El ANOVA muestra que no existe variabilidad de los valores de las poblaciones de actinomicetos entre los diferentes estiércoles utilizados.



**Figura 7. Recuento microbiológico de actinomicetos (UFC/ml) en los biofertilizantes según sus tratamientos (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).**

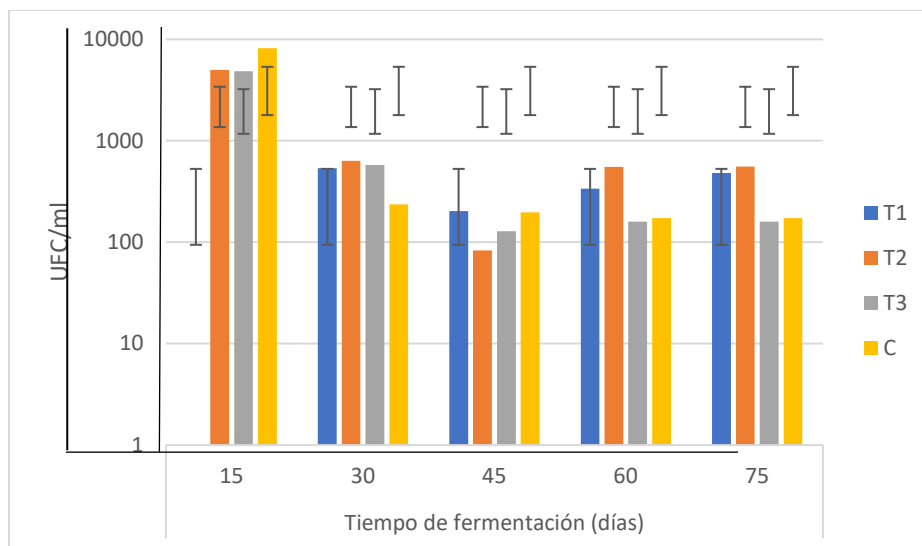
El comportamiento de los actinomicetos durante el período de fermentación muestra una disminución entre los 15 y los 30 días (de  $6.0 \times 10^3$  a  $4.9 \times 10^2$  UFC/ml), manteniéndose relativamente estable a partir de este tiempo (Fig. 8). El estudio de Suárez<sup>18</sup> muestra un comportamiento similar al de esta investigación: una reducción entre los 30 y 45 días de fermentación y una estabilización el resto del TF. El autor señala que la velocidad de crecimiento de los actinomicetos es muy lenta (más que los hongos), lo que hace que haya un mejor

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

aprovechamiento de los elementos nutritivos de los biofertilizantes por parte de otros microorganismos como levaduras y bacterias.

El ANOVA indica que hay diferencias en las poblaciones de actinomicetos entre los TF. La prueba post ANOVA indica que las variaciones en la población de actinomicetos muestran diferencias estadísticas entre el inicio y el final del proceso de fermentación, período en el cual se presenta un descenso de la población de microorganismos de  $4.5 \times 10^3$  a  $3.4 \times 10^2$  UFC/ml, mostrando la caída en las poblaciones de actinomicetos desde los primeros 15 días. Sin embargo, no se encuentran diferencias desde los 30 días hasta el final del proceso de fermentación, período en el cual se observa una estabilización de la población de actinomicetos en el biofertilizante.



**Figura 8. Recuento microbiológico de actinomicetos (UFC/ml) en los biofertilizantes durante el TF (días) (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).**

### Poblaciones de levaduras

Como se muestra en la Fig. 9, el T1 presenta los valores más elevados de levaduras ( $3.8 \times 10^4$  UFC/ml), mientras que el T3 registra los valores más bajos ( $9.9 \times 10^3$ ). No se presentan diferencias estadísticas entre las medias de los tratamientos, indicando que no existe variabilidad en los valores de las poblaciones de levaduras entre los estiércoles utilizados.

# Bionatura

Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

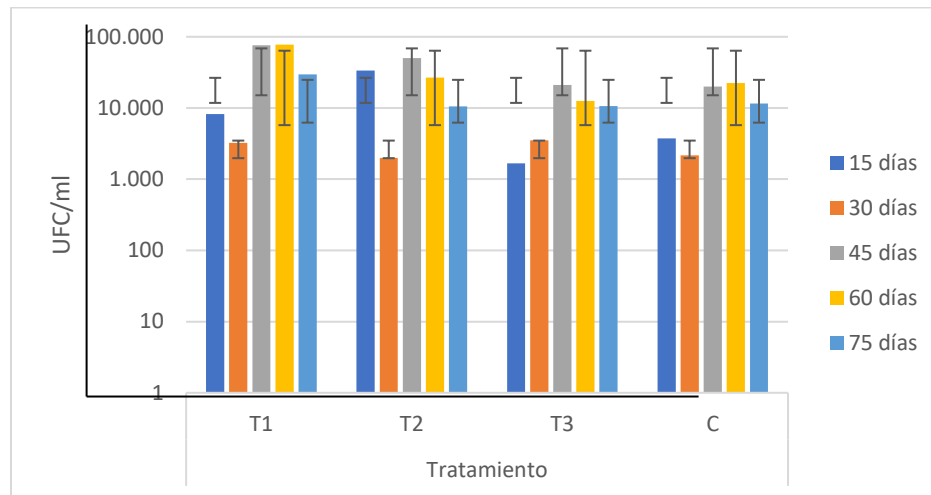


Figura 10. Recuento microbiológico de levaduras (UFC/ml) registrado en los biofertilizantes según sus tratamientos (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).

Las levaduras muestran un comportamiento creciente, bastante uniforme, durante todo el TF, desde  $9.2 \times 10^2$  hasta  $1.2 \times 10^4$  UFC/ ml (véase la Fig. 10). Los resultados muestran que no existen diferencias estadísticas ( $\alpha = 0.05$ ) entre las medias de las poblaciones de levaduras durante el período de fermentación.

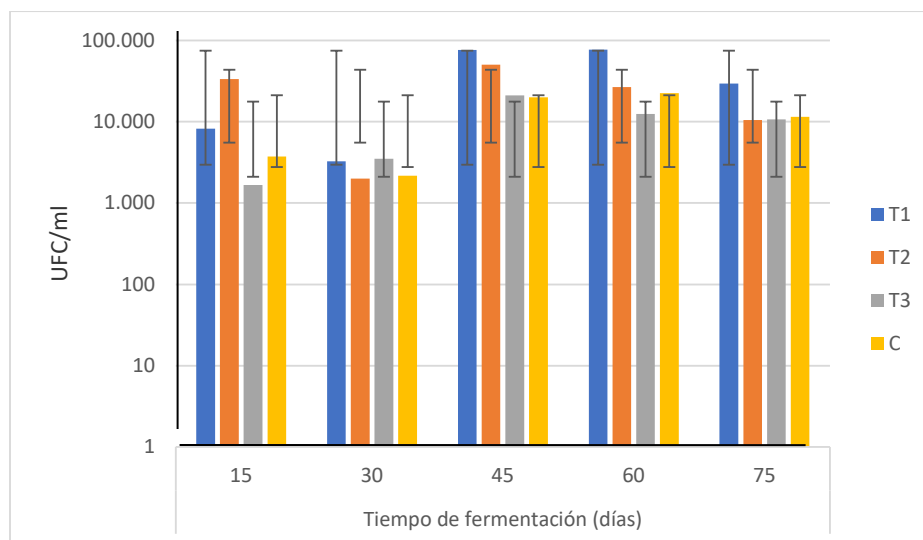


Figura 11. Recuento microbiológico de levaduras (UFC/ml) en los biofertilizantes durante el TF (días) (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).

# Bionatura

Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

## DISCUSIÓN

En todos los tratamientos predominan las poblaciones de levaduras, mientras que los actinomicetos presentan los valores más bajos (Tabla 1). No hay diferencias estadísticas en las poblaciones de microorganismos de los estiércoles utilizados, por lo que su utilización individual en los biofertilizantes no hace que estos tengan contenido microbiológico diferente.

Tratamiento	Hongos	Bacterias	Bacterias ácido-lácticas	Actinomicetos	Levaduras	Medias	D. E.
T1	$7.3 \times 10^3$	$5.6 \times 10^3$	$2.8 \times 10^3$	$3.8 \times 10^2$	$3.8 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$
T2	$8.4 \times 10^3$	$2.1 \times 10^3$	$2.2 \times 10^3$	$4.5 \times 10^2$	$2.4 \times 10^4$	$7.5 \times 10^3$	$9.9 \times 10^3$
T3	$8.1 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$	$6.4 \times 10^3$	$2.5 \times 10^2$	$9.9 \times 10^3$	$7.3 \times 10^3$	$4.4 \times 10^3$
C	$1.1 \times 10^4$	$2.0 \times 10^3$	$6.3 \times 10^3$	$1.9 \times 10^2$	$1.1 \times 10^4$	$6.4 \times 10^3$	$5.3 \times 10^3$
Medias	<b><math>8.8 \times 10^3</math></b>	<b><math>5.4 \times 10^3</math></b>	<b><math>4.4 \times 10^3</math></b>	<b><math>3.2 \times 10^2</math></b>	<b><math>2.1 \times 10^4</math></b>		
D. E.	<b><math>1.9 \times 10^3</math></b>	<b><math>4.6 \times 10^3</math></b>	<b><math>2.2 \times 10^3</math></b>	<b><math>1.2 \times 10^2</math></b>	<b><math>1.3 \times 10^4</math></b>		

D. E.: desviación estándar. (Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).

Tabla 1. Variaciones de los grupos de microorganismos entre los tratamientos (UFC/ml)

Otros estudios muestran que los biofertilizantes elaborados artesanalmente presentan una gran variabilidad con respecto a las poblaciones de microorganismos presentes<sup>17, 18</sup>; sin embargo, en el presente estudio, esa heterogeneidad no se manifiesta entre los tratamientos, ya que los resultados no muestran diferencias estadísticas entre ellos.

Durante el TF sólo se encontraron diferencias en la población de actinomicetos, mostrando una disminución de éstos desde el inicio del proceso hasta los 30 días, a partir de los cuales se mantiene estable a lo largo del tiempo restante de fermentación (véase la Tabla 2).

Suárez<sup>18</sup> señala que la mayor población de microorganismos se presenta a los 45 días de fermentación, principalmente a nivel de bacterias y levaduras. En el presente, la mayor población de microorganismos que se encuentra en este período es principalmente hongos y levaduras.

# Bionatura

Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

Microorganismos	Tiempo de fermentación (días)				
	15	30	45	60	75
<b>Hongos</b>	$9.1 \times 10^2$	$4.3 \times 10^3$	$1.1 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$
<b>Bacterias</b>	$4.8 \times 10^2$	$4.4 \times 10^3$	$8.0 \times 10^3$	$6.6 \times 10^2$	$1.7 \times 10^4$
<b>Bacterias ácido-lácticas</b>	$1.7 \times 10^3$	$3.9 \times 10^3$	$5.0 \times 10^3$	$2.1 \times 10^3$	$9.3 \times 10^3$
<b>Actinomicetos</b>	$6.0 \times 10^3$	$4.9 \times 10^2$	$1.5 \times 10^2$	$3.0 \times 10^2$	$3.4 \times 10^2$
<b>Levaduras</b>	$1.1 \times 10^4$	$2.7 \times 10^4$	$4.1 \times 10^4$	$3.4 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$
<b>Medias</b>	$4.1 \times 10^3$	$3.1 \times 10^3$	$1.3 \times 10^4$	$1.0 \times 10^4$	$1.1 \times 10^4$
<b>Desviación estándar</b>	$4.7 \times 10^3$	$1.6 \times 10^3$	$1.6 \times 10^4$	$1.4 \times 10^4$	$6.7 \times 10^3$

(Fuente: Laboratorio de Ensayos Microbiológicos del CUROC).

Tabla 2. Variaciones de los grupos de microorganismos en el tiempo de fermentación (U.F.C/ml)

Las mediciones se realizaron en períodos de 15 días, hasta completar 75 días, tomando en cuenta que el biofertilizante es un consorcio microbiano cuyos ciclos entre diferentes microorganismos son diferentes y teniendo la posibilidad de observar cambios en esos períodos de tiempo. También se tomó en cuenta que el tiempo del proceso de compostaje puede llevar varias semanas desde su fase mesófila hasta la de maduración<sup>20</sup>.

A partir de los resultados, considerando que el comportamiento muestra que alrededor de los 45 días se estabilizan o decrecen las poblaciones de microorganismos, el período de fermentación podría reducirse a la mitad. Además, debe considerarse realizar análisis para evaluar el almacenamiento del biofertilizante en un período con diferentes intervalos.

Es importante señalar que los MM funcionan en consorcios, que no todos los microorganismos de estos consorcios son cultivables y que se seleccionaron los que se han descrito por ser utilizados como indicadores de calidad de estos productos. Sin embargo, la mayoría de los microorganismos existentes en estos compuestos son no cultivables.

La principal contribución hecha por el estudio deriva de la cuantificación de las poblaciones de hongos, bacterias, bacterias ácido lácticas, actinomicetos y levaduras en biofertilizantes inoculados con MM, así como la

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

identificación de su comportamiento durante el TF. La metodología empleada para la cuantificación de los grupos de microorganismos es reconocida microbiológicamente, los medios de cultivo utilizados y los ensayos microbiológicos contaron con los requerimientos mínimos de aislamiento, asepsia y control y se siguieron las técnicas y los protocolos de análisis microbiológicos para garantizar la calidad de los resultados. Sin embargo, las metodologías utilizadas para la recolección de los microorganismos y la formulación de los biofertilizantes son artesanales, utilizando técnicas de campo con niveles bajos de control de factores ambientales y con una precisión

baja de las proporciones y composición de los insumos utilizados. En este aspecto hay que tomar en cuenta que la constitución de los componentes orgánicos puede variar grandemente, dependiendo del tipo y origen de los materiales (aves, bovinos, etc.), del grado de procesamiento, de la ubicación<sup>21</sup> o del tipo de digestor<sup>22</sup>.

Los resultados del estudio pueden servir de base para diferentes análisis sobre el uso de MM en biofertilizantes, por ejemplo, utilizando metodologías moleculares<sup>23</sup>, incluyendo los avances de técnicas de genómica para identificar los MM existentes en la zona de estudio<sup>24</sup>, así como la determinación de la biomasa microbiana en el suelo a través de ensayos enzimáticos, o la cuantificación de hongos filamentosos empleando técnicas moleculares para la determinación de biomasa fúngica<sup>25</sup>.

Los efectos de los biofertilizantes en cultivos específicos pueden ser estudiados, así como el aislamiento de microorganismos específicos, las interacciones entre microorganismos y de éstos con los parámetros químicos.

Es conocido que los estiércoles pueden aportar inóculo microbiológico y otros materiales orgánicos en mayor o menor cantidad y que la melaza de caña es una importante fuente energética para la fermentación y para favorecer la actividad microbiológica<sup>26</sup>. Sin embargo, una mayor precisión de las formulaciones de los biofertilizantes requeriría la depuración previa de algunos insumos, como los estiércoles y los microorganismos obtenidos de la hojarasca de montaña; un mayor control del pH y el contenido microbiológico del agua utilizada; y un conocimiento de los contenidos de azúcares de otros insumos como la melaza.

Precisamente entre las debilidades referidas reiteradamente en los biofertilizantes, en particular los que utilizan MM, está la aplicación de métodos no estandarizados en su formulación<sup>16</sup> y la falta de definición de indicadores de calidad<sup>10</sup>. La elaboración de formulaciones homogéneas y estables<sup>18, 16</sup>; la implementación de biofábricas, en las que se manejen los principios de calidad e inocuidad, y a su vez, trabajar en la estandarización de fórmulas, podrían ser estrategias a seguir.

Otros aspectos importantes son: la estabilización y preservación de las propiedades del biofertilizante en el tiempo, en diferentes condiciones como temperaturas y en diferentes lotes de producción; la ausencia de microorganismos

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

patógenos. Se pueden identificar nuevas rutas para el desarrollo de inóculos microbiales y para mejorar la estabilidad por medio del uso de nanoformulaciones<sup>27</sup>.

---

### CONCLUSIONES

No se mostraron diferencias en ninguno de los sustratos orgánicos utilizados, con respecto al recuento microbiológico en ninguno de los grupos de microorganismos analizados. Los biofertilizantes muestran que no hay diferencias durante el TF con respecto al recuento microbiológico en cuatro de los cinco grupos de microorganismos analizados. La estabilidad de las poblaciones microbianas en todos los tratamientos puede ser un aspecto importante en la durabilidad de los biofertilizantes y en la utilización de los insumos orgánicos requeridos en su formulación.

El tiempo de fermentación podría reducirse con base en el comportamiento de los microorganismos, en el cual se muestra una tendencia creciente en el inicio y etapas intermedias.

Los resultados obtenidos deben tomarse como punto de partida para futuras investigaciones en las que se profundice sobre diferentes aspectos como la identificación de microorganismos específicos utilizando técnicas avanzadas de genómica, el estudio de las interacciones de los microorganismos con otros microorganismos, con el suelo y con las plantas. Se pueden considerar estudios para evaluar condiciones, tiempos de almacenamiento de biofertilizantes y dosificaciones, para identificar los cambios en los contenidos de los sustratos orgánicos (estiércoles) y en los microorganismos utilizados, para evaluar calidad de los insumos y los procesos y los efectos de los biofertilizantes en cultivos específicos.

### AGRADECIMIENTOS

A la Coordinación Regional de Investigación Científica del CUROC, por todo el apoyo en la ejecución de la investigación. A la Dirección de Investigación Científica de la UNAH, por el apoyo para el desarrollo del estudio a través de la beca de investigación y la asesoría brindada.

---

### REFERENCIAS

1. Toalombo, R. Evaluación de microorganismos eficientes autóctonos aplicados en el cultivo de cebolla blanca (*Allium fistulosum*). Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica de Ambato, Ceballos, Ecuador. 2012.

# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

2. Acosta Díaz, A. & Leguizamo González, E. J. Métodos y técnicas de cuantificación microbiana empleados en la industria de alimentos, farmacéutica, agrícola y ambiental. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. 2020.
3. Arias, A. Microorganismos eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente. *Jou. Cie. Ing.* **2010**, 2 (2): 42 – 45.
4. Morocho, M. & Leiva, M. Microorganismos eficientes, propiedades funcionales y aplicaciones agrícolas. *Ctro. Agr.* **2019**, 46 (2): 93-103.
5. Higa, T. & Parr, J. *Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment*. International Nature Farming Research Center: Atami, Japón, 1994.
6. Frioni, L. *Microbiología básica, ambiental y agrícola*. Universidad de la República: Montevideo, Uruguay, 2006.
7. Umaña, S.; Rodríguez, K. & Rojas, C. ¿Funcionan realmente los microorganismos de montaña como una estrategia de biofertilización? *Ciencias Ambientales*, **2017**, 51 (2): 133-144.  
<https://doi.org/10.15359/rca.51-2.7>
8. Pontificia Universidad Javeriana. *Tecnologías relacionadas con biofertilizantes*. Boletín Tecnológico. Superintendencia de Industria y Comercio: Bogotá, Colombia, 2014.
9. Aguado, G. Uso de microorganismos como biofertilizantes. En *Introducción al uso y manejo de los biofertilizantes en la agricultura*; Aguado, G., Ed.; INIFAP/SAGARPA: Celaya, Guanajuato, México, D. F., 2012; pp. 35-78.
10. Zagoya, J.; Ocampo, J.; Ocampo, I.; Macías, A. & de la Rosa, P. Caracterización fisicoquímica de biofermentados elaborados artesanalmente. *Biotechnia*, **2015**, 17 (1): 14-19.
11. Zeballos Heredia, María Fernanda. Caracterización de microorganismos de montaña (MM) en biofertilizantes artesanales. Tesis de Licenciatura. EAP, Zamorano, Honduras. 2017.
12. Consejo Intermunicipal Higuato. *Indicadores socioeconómicos línea de base del Municipio de Dolores, Copán*. JICA: Dolores, Copán, 2006.
13. COMSA. *Manual de biotecnologías orgánicas*. Café Orgánico Marcala: Marcala, Honduras, 2016.
14. Suchini, J. *Innovaciones agroecológicas para una producción agropecuaria sostenible en la región del Trifinio*. CATIE: Turrialba, Costa Rica, 2012.
15. IHCAFE. *Cartilla 15: Manejo de subproductos del café. Uso de microorganismos*. 2016.  
<https://ihcafemovil.ihcafe.hn/>
16. Acosta Almánzar, H. Microorganismos eficientes de montaña: evaluación de su potencial bajo manejo agroecológico de tomate en Costa Rica. Tesis de Maestría. CATIE, Turrialba, Costa Rica. 2012.
17. Araya Alpízar, F. Producción y caracterización de bioles para su uso en el cultivo de banano (*Musa Sp.*). Tesis de Licenciatura. ITCR, Cartago, Costa Rica. 2010.
18. Pacheco, F.; Borrero, G. & Villalobos, M. *Evaluación de la calidad bioquímica resultante de biofermentos agrícolas para uso de familias productoras orgánicas*. Red de Coordinación en Biodiversidad: Cartago, Costa Rica, 2017.



# Bionatura

## Ibero American Journal of Biotechnology and Life Sciences

19. Suárez Segura, D. M. Caracterización de un compuesto orgánico producido en forma artesanal por pequeños agricultores en el departamento del Magdalena. Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia, Santa Marta, Colombia. 2009.
20. Córdor-Golec, A.; González Pérez, P. & Lokare, C. Effective microorganisms: myth or reality? *Rev. Peru. Biol.* **2007**, 14 (2): 315-319.
21. Román, P., Martínez, M. & Pantoja, A. *Manual de compostaje del agricultor*. FAO: Santiago de Chile, 2013.
22. Syed, S.; Wang, X.; Prasad, T. & Lian, B. Bio-organic mineral fertilizer for sustainable agriculture. *Minerals*, **2021**, 11, 1336. <https://doi.org/10.3390/min11121336>
23. Warnars, L. & Oppenoorth, H. *El biol: el fertilizante supremo*. Hivos: Países Bajos, 2014.
24. Carrasquilla Gallego, M. El microbioma del agroecosistema y su importancia en la agricultura sostenible. Tesis de doctorado. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona. 2020.
25. Nogales, B. La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. *Ecosistemas*, **2005**, 14 (2): 41-51.
26. Restrepo, J. & Hensel, J. *Manual práctico de agricultura orgánica y panes de piedra*. Impresora Feriva S.A.: Cali, Colombia, 2009.
27. Yimer, D. & Abena, T. Components, mechanisms of action, success under greenhouse and field condition, market availability, formulation and inoculants development on biofertilizer. *Biomed. J. Sci. & Tech. Res.*, **2019**, 12 (4): 9366-9372. DOI: 10.26717/BJSTR.2019.12.002279

**Received: 26 September 2023 / Accepted: 15 April 2023 / Published: 15 December 2023**

Citation: López Guevara J M , Estévez Ramírez K J, Mejía Arita E, Romero Zepeda E A , Díaz Chacón F A. Caracterización microbiológica de biofertilizantes inoculados con microorganismos de montaña en el departamento de Copán Honduras. *Revis Bionatura* 2023;8 (4) 35. <http://dx.doi.org/10.21931/RB/2023.08.04.35>

**Publisher's Note:** Bionatura stays neutral concerning jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Copyright:** © 2023 by the authors. Submitted for possible open-access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).